

The Delphion Integrated View

Get Now: PDF | File History | Other choicesTools: Add to Work File: Create new Work

View: Expand Details | INPADOC | Jump to: Top

Go to: Derwent

Email

>Title: **DE19852947A1: Micro-liter automatic dispensing apparatus comprising moving vertically to penetrate cover over micro-titration plate, to dispense liquid into cells** [German]

Derwent Title: Micro-liter automatic dispensing apparatus comprises needle moving vertically to penetrate cover over micro-titration plate, to dispense liquid into cells [\[Derwent Record\]](#)

Country: DE Germany

Kind: A1 Document Laid open (First Publication) 

Inventor: Horn, Anton, Prof. Dr.; Jena, Germany 07749
 Kreusch, Stefan, Dipl.-Biochem.; Jena, Germany 07743
 Moore, Thomas, Dipl.-Math.; Jena, Germany 07749
 Sammler, Günther; Jena, Germany 07749
 Ditz, Günter, Dipl.-Ing.; Stadtroda, Germany 07646

Assignee: Friedrich-Schiller-Universität Jena, Jena, Germany 07743
 OPAL JENA Gesellschaft für optische Analytik und Labortechnik mbH, Jena, Germany 07745
[News, Profiles, Stocks and More about this company](#)

Published / Filed: 2000-05-18 / 1998-11-12

Application Number: DE1998019852947

IPC Code: Advanced: G01N 1/18; H01J 49/04; G01N 35/02; G01N 35/10;
 Core: H01J 49/02; more...
 IPC-7: B01D 15/08; B01L 3/00; B01L 3/02; B01L 7/00; G01M 3/02;
 G01N 1/28; G01N 3/20; G01N 30/80; G01N 35/10;

ECLA Code: G01N1/18; H01J49/04; S01N35/02P; S01N35/10P; S01N35/10T2;

Priority Number: 1998-11-12 DE1998100052947

Abstract: The dispenser needle (8) is moved vertically to penetrate a cover (13) over a micro-titration plate (10), dispensing liquid into its cells (9). The needle is retracted and moved between them under automatic control. The cover prevents evaporation, contamination and aerosol release. A resilient damping system absorbs and stores impulses when motion is interrupted. The dispenser needle (8) is moved vertically to penetrate a cover (13) over a micro-titration plate (10), dispensing liquid into its cells (9). It is retracted and moved between them under automatic control. The cover prevents evaporation, contamination and aerosol release. Residual droplets on the needle end are wiped off, preventing error, and contaminants are kept away, by the cover. A resilient damping system absorbs and stores impulses when motion is interrupted. Preferred Features: Droplets adhering to the needle following delivery are deposited in contact with the cell liquid contents, or its wall, preventing error. The

needle rises appropriately, for movement between cells. The needle is given a shake, to detach any residual droplet. This is transmitted to and by e.g. the flexible supply tube (4). Cell temperature is adjusted for careful treatment and to reduce evaporation errors. The cover is slit during penetration, to assist liquid handling techniques, avoiding cover removal. [\[German\]](#)

INPADOC

Legal Status:

Family:

[Show legal status actions](#)

None

First Claim:

[Show all claims](#)

1. Verfahren zum Sammeln von Fraktionen nach Stofftrennung, bei dem ein substanzabgebendes Element über in einem definierten und zur an sich bekannten "liquid handling"-Technik paßfähigen Raster angeordneten Sammelgefäßen relativ zu diesen positioniert wird, jeweils unter einer vertikalen relativen Bewegung in die Sammelposition gebracht wird und dort eine zu fraktionierende Substanzmenge in das selektierte Sammelgefäß abgibt, dadurch gekennzeichnet, daß das substanzabgebende Element bei seiner vertikalen relativen Bewegung für die Substanzabgabe jeweils eine auf den Sammelgefäßen befindliche und die Aerosolbildung in der Umgebung verhindernde, verdunstungs- und kontaminierungssicher abschließende, Resttropfen am substanzabgebenden Element abweisende sowie auch sonstige fehlfraktionierende Substanzanteile fernhaltende Abdeckung perforiert, die Substanz in der Sammelposition durch diese Abdeckung hindurch in das selektierte Sammelgefäß abgibt und sich danach aus dem abgedeckten Sammelgefäß in die Ausgangslage zurück bewegt und daß der Flüssigkeitsstrom zum substanzabgebenden Element jeweils während der Positionierbewegung des substanzabgebenden Elementes unterbrochen sowie zur Dämpfung der mit dieser Unterbrechung auf das substanzabgebende Element wirkenden Druckänderungen elastisch aufgenommen und zwischengespeichert wird.

Description

[Expand description](#)

+

Die Erfindung betrifft ein Verfahren und eine Vorrichtung zum Sammeln von Fraktionen, vorzugsweise im Mikrolitermaßstab, und ist für analytische und präparative Anwendungen in der Biochemie, der Molekularbiologie, der Chemie, der Pharmazie, der Pharmakologie, insbesondere aber in der Biotechnologie, vorgesehen. Beispielhafte seien die Einsatzmöglichkeiten für das Wirkstoffscreening in der Pharma industrie, für die klinisch-chemische Analytik, für die Proteinanalyse nach Fragmentierung sowie für die kombinatorische Chemie genannt.

Aufstellung der verwendeten Bezugszeichen

Domestic References:

PDF	Patent	Pub.Date	Inventor	Assignee	Title
<input checked="" type="checkbox"/>	DE3490484	1993-01-21	Coulter, Wallace Henry	Coulter Electronics, Inc., Hialeah, Fla., US	Automatisches Analyseverfahren automatisches Analysegeraet
<input checked="" type="checkbox"/>	DE29805613	1998-07-09		Hoechst Marion Roussel Deutschland GmbH, 65929 Frankfurt, DE	Miniaturisierte Mikrotiterplatte fü HTS-Screening

Foreign References:

PDF	Publication	Date	IPC Code	Assignee	Title

	US5604130A			
<input checked="" type="checkbox"/>	US5056427	B01J 19/16	SEIKO INSTRUMENTS INC.	Sealing of cavity on r tray

Other Abstract

Info:



[DERABS C2000-351758](#) [DERABS C2000-351758](#)



[Nominate this for the Gallery...](#)

THOMSON

Copyright © 1997-2008 The Tho

[Subscriptions](#) | [Web Seminars](#) | [Privacy](#) | [Terms & Conditions](#) | [Site Map](#) | [Contact U](#)



⑯ BUNDESREPUBLIK
DEUTSCHLAND



DEUTSCHES
PATENT- UND
MARKENAMT

⑯ ⑫ **Offenlegungsschrift**
⑯ ⑩ **DE 198 52 947 A 1**

⑯ Int. Cl.⁷:
G 01 N 1/28

B 01 L 3/00
B 01 L 7/00
G 01 N 3/20
G 01 M 3/02
G 01 N 30/80
B 01 D 15/08
// B01L 3/02, G01N
35/10

⑯ ⑯ Aktenzeichen: 198 52 947.3
⑯ ⑯ Anmeldetag: 12. 11. 1998
⑯ ⑯ Offenlegungstag: 18. 5. 2000

DE 198 52 947 A 1

⑯ ⑯ Anmelder:

Friedrich-Schiller-Universität Jena, 07743 Jena, DE;
OPAL JENA Gesellschaft für optische Analytik und
Labortechnik mbH, 07745 Jena, DE

⑯ ⑯ Erfinder:

Horn, Anton, Prof. Dr., 07749 Jena, DE; Kreusch,
Stefan, Dipl.-Biochem., 07743 Jena, DE; Moore,
Thomas, Dipl.-Math., 07749 Jena, DE; Sammler,
Günther, 07749 Jena, DE; Ditz, Günter, Dipl.-Ing.,
07646 Stadtroda, DE

⑯ ⑯ Für die Beurteilung der Patentfähigkeit in Betracht
zu ziehende Druckschriften:

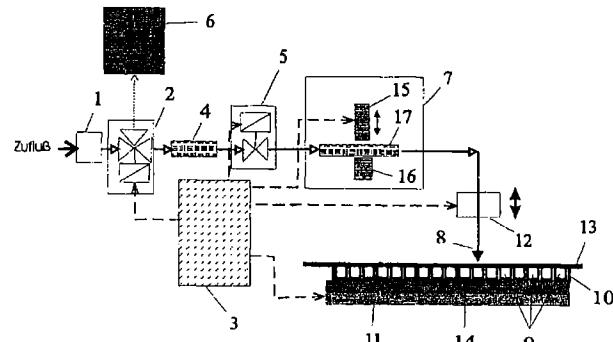
DE 34 90 484 C2
DE 298 05 613 U1
US 56 04 130 A
US 50 56 427

Die folgenden Angaben sind den vom Anmelder eingereichten Unterlagen entnommen

⑯ ⑯ Verfahren und Vorrichtung zum Sammeln von Fraktionen nach Stofftrennung

⑯ ⑯ Die Erfindung betrifft ein Verfahren und eine Vorrichtung zum Sammeln von Mikroliter-Fraktionen nach Stofftrennung für analytische und präparative Anwendungen, insbesondere in der Pharmazie, der Pharmakologie, der klinischen Analytik, Biochemie, in der Molekularbiologie und in der Biotechnologie. Es sollen Fraktionen, vorzugsweise im Bereich weniger Mikroliter, ohne Gefahr von Verunreinigungen, Verdunstungsverlusten, Fraktionsvermischungen und mit möglichst geringem Handhabungsaufwand für das Vor- und Nachbehandeln der Probengefäße gesammelt werden.

Erfindungsgemäß werden die Sammelgefäß(e) (9) vorzugsweise einer Multiwellenanalyseplatte (10) mit einer perforierbaren Deckfolie (13), beispielsweise einer Klebefolie, verschlossen bzw. bereitgestellt. Eine Perforierspitze (8) durchsticht jeweils die Deckfolie (13) und gibt ein voreingestelltes Volumen in Abhängigkeit von Zeit und Volumenstrom oder von einem Detektorsignal durch diese hindurch in das entsprechende Sammelgefäß (9) ab. Die Sammelgefäß(e) (9) bleiben bei der Fraktionierung verschlossen, so daß Aerosolbildung, Verdunstungsverluste, Verunreinigung der fraktionierten Proben durch Staub- und sonstige Schmutzpartikel, Fehlfractionierungen und Fraktionsverschleppungen zuverlässig vermieden werden. Zusätzlich kann die Deckfolie (13) zur Weiterbehandlung mit Geräten der an sich bekannten "liquid handling"-Technik geschlitzt werden. Während der Positionierungsbewegung der Perforierspitze (8) wird der Volumenstrom der zu ...



DE 198 52 947 A 1

Beschreibung

Die Erfindung betrifft ein Verfahren und eine Vorrichtung zum Sammeln von Fraktionen, vorzugsweise im Mikrolitermaßstab, und ist für analytische und präparative Anwendungen in der Biochemie, der Molekularbiologie, der Chemie, der Pharmazie, der Pharmakologie, insbesondere aber in der Biotechnologie, vorgesehen. Beispielhafte seien die Einsatzmöglichkeiten für das Wirkstoffscreening in der Pharmaindustrie, für die klinisch-chemische Analytik, für die Proteinanalyse nach Fragmentierung sowie für die kombinatorische Chemie genannt.

Die Methoden der Stofftrennung, speziell mit chromatographischen Verfahren, sind im letzten Jahrzehnt erheblich weiterentwickelt und miniaturisiert worden. Diese Miniaturisierung machte sich besonders deshalb erforderlich, weil zur routinemäßigen Charakterisierung vieler biologisch aktiver Substanzen häufig nur sehr geringe Substanzmengen im µg- oder ng-Bereich zur Verfügung stehen. Darüber hinaus sind in den letzten Jahren die Anforderungen an die Probendurchsätze der Analytik, in der Wirkstoffsuche, Biotechnologie und Molekularbiologie stark gestiegen. Durch den Stand der Pumpen-Säulen- und Detektionstechnik wird eine Trennung im Bereich weniger Mikroliter möglich. Neben der online-Verfolgung des Chromatographieergebnisses hat sich besonders in der letzten Zeit die Notwendigkeit ergeben die einzelnen in dichtem Raster hochauflöst gesammelten Fraktionen offline, zu analysieren (z. B. Peptidtrennungen mit anschließender Massenspektrometrie: Courchesne P. L., Patterson S. D.: Manuell microcolumn chromatography for sample cleanup before mass spectrometry, Biotechnics 22, 1998, No. 2, 244–250). Aus der erforderlichen dichten Fraktionierung ergeben sich viele Einzelproben, für deren hoch auflösende Charakterisierung eine effektive parallele Verarbeitung notwendig ist.

Die angewendeten bekannten chromatographischen Trennverfahren haben jedoch einen sequentiellen Ablauf und müssen somit für eine effektive parallele Weiterbearbeitung den verfügbaren Rastern für Multipippettier-Dispensier- und Mehrkanalmeßtechnik angepaßt werden. Gegenwärtig wird ein weitverbreiteter Standard für die Probengefäße durch die sogenannte Multiwellenanalysenplatte (beispielsweise Gerasimova N. S., Steklova I. V., Tuuminen T.: Fluorometric method for phenylalanine microplate assay adapted for phenylketonuria screening, Clin-Chem. 1989, Oct, 35 (10), 2112–2115 oder Matthews P. D., Wurtzel E. T.: high throughput microplate format for producing and screening riboprobes from bacterial cells, Biotechniques. 1995 Jun, 18 (6), 1000–1002, 1004 oder Wu P., Daniel-Issakani S., LaMarco K., Strulovici B.: an automated high throughput filtration assay: application to polymerase inhibitor identification, Anal-Biochem. 1997, Feb 15; 245 (2), 226–230 oder Rashed M. S., Bucknall M. P., Little D., Awad A., Jacob M., Alamoudi M., Alwattar M., Ozand P. T.: screening blood spots for inborn errors of metabolism by electrospray tandem mass spectrometry with a microplate batch process and a computer algorithm for automated flagging of abnormal profiles, Clin-Chem. 1997, Jul; 43 (7), 1129–1141) und die von ihr abgeleiteten Raster bestimmt. Die Maße sind im SBS-Standard festgelegt. Von diesem Ausgangsmaß gibt es eine Anzahl von 96 Probengefäßen abgeleiteter Raster mit 384, 864 und 1536 Probengefäßen (Kataloge der Firmen Greiner bzw. Corning Costar). Fast alle Geräte für einen hohen Probendurchsatz des "liquid handling" und parallele Bearbeitung sind diesem Raster angepaßt und damit in dem Bereich untereinander kompatibel.

Die Trennverfahren mit flüssigen volumenbewegenden Trenntechniken, wie HPLC oder FPLC mit einem sequen-

tiellen Ablauf, sammeln die getrennten Proben mit Fraktionssammlern in einer bestimmten Reihenfolge oder mit einem bestimmten Raster, entweder kontinuierlich nach dem Volumen und der Zeit, einem zeitlichen Programm oder nach einem vorgegebenen Schwellwert des jeweiligen Detektors. Bekannt sind verschiedene Typen automatischer Fraktionssammler, die an häufig auch automatisierte Flüssigtrennvorgänge gekoppelt sind (US 4 422 151, US 4 049 031 oder DE 35 20 055). Diese bestehen aus Halterungen der Probengefäße, einer Zuführung der zu sammelnden Lösung und einer internen oder externen Steuerungseinheit. Für die Anordnung der Probengefäße gibt es folgende Varianten: erstens karussellförmig (US 3 838 719), zweitens spiralförmig (US 3 570 555), drittens in Reihen und Spalten (US 4 422 151) viertens reihen- und spaltenweise in beweglichen Containern (US 4 077 444).

Die Positionierung der Probengefäße unter die Austrittsöffnung für die Probenlösung erfolgt entweder durch ein Bewegen der Halterung der Probengefäße oder durch eine Bewegung der Austrittsöffnung.

Die Sammelvolumina erreichen im unteren Bereich 5 µl (Firmenprospekt Pharmacia Biotech: Fraktionssammler am Smart™ System). Für geringe Volumina und hohe Probenzahlen werden oft Formate die dem Raster von Multiwellenanalysenplatte entsprechen eingesetzt (INTERNET-Publikation der Firma Gilson zum Fraktionssammler FC203, zum Fraktionssammler am Combinatorial Chromatographie System und zum µ-Fraktionierer auf der Basis eines Gilson 221XL). Diese Fraktionssammler haben einen Aufnahmeplatz für mindestens einen Probenbehälter. Ein bewegliches Element führt die Zuführung der Proben horizontal über die im Raster fest stehenden einzelnen Probengefäße und füllt diese der Vorgabe entsprechend. Es gibt Ausführungen, die das zuführende Element, eine Kapillare oder ein Kapillarrohr zusätzlich zu der horizontalen Positionierungsbewegung über das jeweilige Gefäß, vertikal in das Gefäß zum Absetzen der Probe bewegen (INTERNET-Publikation der Firma Gilson zum Fraktionssammler am Combinatorial Chromatographie System und zum µ-Fraktionierer auf der Basis eines Gilson 221XL sowie der Firma Pharmacia Biotech zum Fraktionssammler am Smart™ System). Eine weitere Vertikalbewegung zum Trennen des letzten Tropfens am Auslauf ist patentiert (DE 43 03 275).

Nachteilig bei den bisherigen Fraktionssammlern sind bei den geringen Flüssigkeitsmengen der Proben besonders die Verdunstungsverluste (hohes Oberflächen/Volumenverhältnis), Verschleppungskontaminationen der Fraktionen untereinander, Kontaminationen aus der Luft, wie Staubpartikel und Mikroorganismen, sowie die Möglichkeit der Aerosolbildung des Sammelgutes.

Eine Verringerung der Verdunstung und Verbesserung der Haltbarkeit kann durch eine Temperierung unterhalb der Raumtemperatur erreicht werden (INTERNET-Publikation der Firma Gilson zum temperierbaren Probenbehälter des Fraktionssammlers FC206).

Eine weitere Möglichkeit, Verdunstungsverluste zu verringern und Kontaminationen zu vermeiden, besteht darin, die Platten mit Abdeckungen zu versehen oder zuzukleben bzw. zu verschweißen und damit jedes Probengefäß der Platte hermetisch abzuschließen (US 5 056 427, US 5 604 130). Die Firma Gilson verwendet für einen Kontaminationsschutz der Sammelgefäße bei ihrem Fraktionssammler FC206 einen Deckel zum Schutz. Für die Abdeckung mit Folien gibt es sowohl die Möglichkeit, manuell Folien zu kleben, als auch kommerziell erhältliche Geräte mit automatisiertem Ablauf zum Folienkleben und Schweißen (INTERNET-Publikation der Firma Zymark zu ihrem Presto Automated Microplate Sealer). Der Nachteil aller

dieser Abdeckungen für den Einsatz als Verdunstungs- und Kontaminationsschutz für Fraktionssammlerproben besteht darin, daß die Öffnungen der Sammelgefäße primär verschlossen sind und somit die Deckel oder Folien vor dem Sammeln entfernt und nach dem Sammeln wieder aufgebracht werden müssen. Das bedeutet erstens einen entsprechenden Bearbeitungsaufwand für das Probenhandling, d. h. für die Handhabung der Sammelgefäße zum Vorbereiten und Nachbearbeiten des Sammeltorgangs. Besonders problematisch ist aber zweitens, daß mit dem zeitweise nicht vorhandenem Verschluß während des Fraktionierens kein hinreichender Schutz gegeben ist. Die Gefahr von Probenverlusten, Verunreinigungen und Fehlfaktionierungen, insbesondere durch Fraktionsverschleppung, während der Fraktionierung ist weiterhin gegeben. Auch eine Automatisierung des Sammeltorgangs ist damit auf effektive Art nicht möglich. Aus diesen Gründen findet der Verschluß der Sammelgefäße in der Praxis so gut wie keine Anwendung.

Der Erfindung liegt die Aufgabe zugrunde, Fraktionen im Mikrolitermaßstab ohne Gefahr von Verunreinigungen, von Flüssigkeitsverlusten, von Fraktionsvermischungen und von Aerosolbildung sowie mit möglichst geringem Handhabungsaufwand für das Vor- und Nachbehandeln der Probengefäße zu sammeln.

Erfindungsgemäß werden die Sammelgefäße mit einer perforierbaren Abdeckung, beispielsweise einer Klebefolie, verschlossen, bzw. die Sammelgefäße können bereits mit einem solchen hermetischen Abschluß bereitgestellt werden. Mit einer dünnen, hohlen Perforierspitze wird jeweils bei ihrer Positionierung die Abdeckung durchdrungen und bei Erreichen der Sammelposition die fraktionierte Flüssigkeit durch die Abdeckung hindurch in das ausgewählte Sammelfäß abgegeben. Die Abdeckung verhindert die Aerosolabgabe in die Umgebung und schließt die Sammelgefäße verdunstungs- und kontaminierungssicher ab. Außerdem verhindert sie weitgehend, daß fehlfraktionierende Substanzanteile, die beispielsweise auf die Multiwellanalysenplatte tropfen, in deren Sammelgefäße gelangen und sich mit der gesammelten Fraktion vermischen. Nach der Probenabgabe bewegt sich die probenzuführende Hohlnadel jeweils wieder in ihre Ausgangslage über dem Sammelfäß zurück. Zur sicheren Vermeidung von Fehlfaktionierungen wird während der Positionierbewegung der Perforierspitze die Zufuhr der zu fraktionierenden Flüssigkeit zur Perforierspitze als substanzabgebendes Element unterbrochen. Diese Unterbrechung wird vorteilhaft durch ein elektromechanisches Ventil realisiert. Das vor dem Ventil weiterhin kontinuierlich zufließende Volumen wird durch einen elastischen Verformungskörper, vorzugsweise durch einen elastischen dünnen Zuführungsschlauch, aufgenommen und zwischengespeichert. An der Perforierspitze hängende Resttropfen werden durch Abstreifen am Gefäßboden bzw. an der Flüssigkeitsoberfläche der zu sammelnden oder vorgelegten Flüssigkeit und/oder durch einen Impuls zum Ausstoßen der Restlösung aus der Nadelspitze in das Sammelfäß abgegeben. Die vorzugsweise Nutzung der einen oder anderen Möglichkeit richtet sich nach der zu sammelnden Probe, den verwendeten Sammelgefäßen und nach dem Sammeltolumen.

Die Sammelgefäße bleiben bei der Fraktionierung bis auf den winzigen Perforierungs-Durchstich verschlossen, so daß auch während des Sammelns der besagte Schutz gegen Verdunstungsverlust, Verunreinigung, Aerosolbildung in der Umgebung etc. gegeben ist. Das Aufbringen zusätzlicher Abdeckungen für das geschützte Aufbewahren, den Transport und die Weiterverarbeitung der Fraktionen in den Sammelgefäßen entfällt, da die Sammelgefäße, abgesehen von dem Perforationsdurchstich, nach der Fraktionierung im

wesentlichen noch abgedeckt sind. Der Handhabungsaufwand für das Aufbringen der perforierbaren dünnen Deckfolie, z. B. einer Klebefolie auf eine Multiwellanalysenplatte, ist gering und gegebenenfalls können bereits in der Vorfertigung gedeckelte Multiwellanalysenplatten eingesetzt werden.

In den Unteransprüchen 2 bis 7 und 9–27 sind vorteilhafte Ausgestaltungen der Verfahrens- bzw. Vorrichtungsmerkmale aufgeführt.

10 Die Erfindung soll nachstehend anhand eines in der Zeichnung dargestellten Ausführungsbeispiels näher erläutert werden.

Es zeigen:

Fig. 1: Prinzipaufbau des Fraktionssammlers,

15 Fig. 2: Perforierspitze in Sammelposition nach Durchstechen der Abdeckung des Sammelfäßes,

Fig. 3: Zeitlicher Ablauf der Steuerung für die Sammeltzeit einer Fraktion mit einem Impuls zum Substanzrestausstoß,

20 Fig. 4: Zeitlicher Ablauf der Steuerung für die Sammeltzeit einer Fraktion ohne Impuls zum Substanzrestausstoß,

Fig. 5: Ausführungsformen der hohlen Perforierspitze,

Fig. 6: Perforierspitze mit zusätzlichen Schneiden in unterschiedlichen Ausführungsformen,

Fig. 7: Einspanneinrichtung für die Perforierspitze,

Fig. 8: Gegenüberstellung der Verdunstungsverluste einer offenen und abgedeckten Multiwellanalysenplatte.

In Fig. 1 ist der Prinzipaufbau des Fraktionssammlers im Mikrolitermaßstab dargestellt. Die zu fraktionierende Substanz wird über einen Anschlußadapter 1 einem Mehrwegeventil 2 zugeführt. Das Mehrwegeventil 2, lenkt, gesteuert von einer Steuereinheit 3, den Volumenstrom entweder zu einem Abfallgefäß 6 oder über einen elastischen Schlauch 4, ein Fraktionierventil 5 sowie über eine Ausstoßeinrichtung

35 7 in Richtung einer hohlen Perforierspitze 8, mit welcher die zu sammelnden Fraktionen jeweils in ausgewählte Sammelfäße 9 einer Multiwellanalysenplatte 10 abgegeben werden. Zur relativen x-y-Positionierung der hohlen Perforierspitze 8 zu den Sammelfäßen 9 steht die Multiwellanalysenplatte 10 mit einer Positioniereinheit 11, beispielsweise einem an sich bekannten x-y-Koordinatentisch, in Verbindung, die ebenfalls durch die Steuereinheit 3 bewegungsgesteuert wird. Für jede Fraktion wird jeweils durch Positionierung der Multiwellanalysenplatte 10 relativ zur Perforierspitze 6 das entsprechende Sammelfäß 7 der Multiwellanalysenplatte 10 über die Steuereinheit 3 und die Positioniereinheit 11 selektiert. Außerdem steuert die Steuereinheit 3 eine Hubeinheit 12 zur z-Bewegung der Perforierspitze 8, um diese nach Selektion eines Sammelfäßes 9 für die jen

40 weilige Fraktion zur Substanzabgabe in das Sammelfäß 9 hineinzubewegen. Bei ihrer Vertikalbewegung zum Erreichen der Sammelposition für die Substanzabgabe durchsticht die Perforierspitze 8 eine auf die Multiwellanalysenplatte 10 aufgebrachte Deckfolie 13 und gibt die Fraktion durch die so perforierte Deckfolie 13 hindurch in das ausgewählte Sammelfäß 9 ab (vgl. Fig. 2).

Die Deckfolie 13, beispielsweise eine Klebefolie, verhindert vor, während und nach der Fraktionierung eine Aerosolbildung in der Umgebung, eine Verdunstung sowie eine Kontaminierung durch Staub- und Schmutzpartikel der sehr geringen Fraktionsvolumina in den Sammelfäßen 9. Für den Fall, daß von der über den Sammelfäßen 9 positionierbewegten Perforierspitze 8, beispielsweise bei unzulänglichem Schließen der Ventile oder undichten Verbindungen, aus dieser austretende Tropfen, die nicht mehr zur jenweiligen Fraktion gehören, auf die Multiwellanalysenplatte 10 gelangen, werden diese Tropfen durch die Deckfolie 13 ebenfalls von den Sammelfäßen 9 ferngehalten und kön-

nen somit keine Fehlfaktionierung bewirken. Die Multiwellanalysenplatte 10 kann auch für einen präventiven Verschmutzungsschutz und Sterilität der Sammelgefäß 9 bereits mit dieser Deckfolie 13 versehen geliefert, aufbewahrt und zur Fraktionierung bereitgestellt werden. Ebenso ist es möglich, in der Multiwellanalysenplatte 10 eine Lösung oder Festsubstanz vorzulegen, beispielsweise Stabilisatoren für Proteine, die Multiwellanalysenplatte 10 mit der Deckfolie 13 zu verschließen und die Fraktionen in den Sammelgefäß 9 mit dem vorgelegtem Material zu sammeln.

Für einen zusätzlichen Verdunstungsschutz steht die Multiwellanalysenplatte 10 mit einer Temperiereinheit 14 in Verbindung, durch welche die in einem definierten Raster, beispielsweise $n \times 8 \times 12$, angeordneten Sammelgefäß 9 der Multiwellanalysenplatte 10 auf eine Temperatur unterhalb der Raumtemperatur gehalten werden.

Nach der Substanzzabgabe wird die Perforierspitze 8 aus ihrer Sammelposition im Sammelgefäß 9 in eine obere Ausgangslage durch z-Positionierung zurückbewegt. Anschließend kann ein anderes Sammelgefäß 9 für die nächste zu sammelnde Fraktion selektiert werden.

Während der Positionierungsbewegung der Perforierspitze 8 von bzw. zu ihrer Sammelposition im jeweils selektierten Sammelgefäß 9, einschließlich der relativen Positionierungsbewegung der Multiwellanalysenplatte 10, wird der durch das Mehrwegeventil 2 kontinuierlich fließende Volumenstrom mittels des Fraktionierventils 5 unterbrochen.

Der Schlauch 4 ist elastisch ausgebildet und weist einen geringen Innendurchmesser (geringer oder gleich 0,5 mm) auf. Damit ist gewährleistet, daß erstens der infolge des Schließens des Fraktionierventils 5 in der zu sammelnden Substanz auftretende Druckimpuls gedämpft und zweitens die zu fraktionierende Substanz ohne wesentliche Substanzvermischung, beispielsweise infolge Verwirbelung, bis zur nächsten Substanzzabgabe aufgenommen und zwischengespeichert wird. Ein noch an der Perforierspitze 8 befindlicher Flüssigkeitstropfen wird durch einen Impuls der Ausstoßeinrichtung 7 abgestoßen. In Fig. 1 besteht die Ausstoßeinrichtung 7 aus einem von der Steuereinheit 3 elektromagnetisch bewegten Stempel 15, der nach erfolgter Substanzzabgabe der Perforierspitze 8 in das selektierte Sammelgefäß 9 kurzzeitig einen kurzen mechanischen Impuls gegen ein Widerlager 16 auf den elastischen Schlauch 17 gibt. Der kurze Impuls könnte auch auf anderem Wege, beispielsweise andere mechanische Elemente, wie Nocken und Hebel, ein piezoelektrisches Element, Ultraschall, komprimiertes Gas oder Vakuum, auf die Substanz in der Perforierspitze 8 oder deren Zuführung wirkend gegeben werden. Es ist auch möglich, daß Restropfen an der Oberfläche der gesammelten und/oder bereits vorgelegten Substanz bzw. an der Innenwand des Sammelgefäßes 9 durch Berührung abgestreift werden, wofür die Hubeinrichtung 12 zur sehr genauen und feinfühligen Bewegungssteuerung der Perforierspitze 8 zweckmäßigerweise einen hochaufgelösten Schrittantrieb besitzt oder mit einem solchen in Verbindung steht. (Die genannten Alternativlösungen zur Impulserzeugung der Ausstoßeinrichtung 7 sind aus Übersichtsgründen nicht in der Zeichnung dargestellt.)

In Fig. 3 ist ein Zeitschema, bezogen auf die Sammelzeit für eine Fraktion, mit einem solchen Impuls zum Restausstoß von Flüssigkeitstropfen (Ausstoßeinrichtung 7), für die Steuerung der Positioniereinheit 11, der Hubeinheit 12 und des Fraktionierventils 5 sowie mit Darstellung des Druckverlaufes im elastischen Schlauch 4 dargestellt. Zum Vergleich zeigt Fig. 4 ein relevantes Zeitschema ohne den Impuls für den Restausstoß.

Fig. 5 zeigt jeweils in zwei Ansichten mögliche Ausführungsformen für die die Deckfolie 13 durchstoßende Perfo-

rierspitze 8, wobei die Erfindung nicht auf die dargestellten Formen beschränkt ist. Die Perforierspitze 8 kann beispielsweise Einzelspitzen 18, Mehrfachspitzen 19, Einphasungen 20, Anphasungen 21, beliebig geformte Phasen 22 etc. allein oder in Kombination aufweisen. Die Auswahl der geeigneten Perforierspitzenform richtet sich nach dem Verwendungszweck, insbesondere hinsichtlich der Art der zu durchstoßenden Deckfolie 13.

In Fig. 6 sind an der Perforierspitze 8 zusätzlich Schneiden 23 unterschiedlicher Form (Fig. 6a bis Fig. 6c vier-schneidig und Fig. 6d bis Fig. 6f doppelschneidig, jeweils in zwei Ansichten dargestellt) angeordnet. Die Schneiden 23 schließen bei der Hubbewegung der Perforierspitze 8 in das Sammelgefäß 9 hinein die Deckfolie 13 zusätzlich zur Perforierung für die Substanzzabgabe mit einem Einfach- oder Mehrfachschlitz auf. Durch die Schlitze bleiben die Sammelgefäß 9 zwar im wesentlichen durch die Deckfolie 13 nach wie vor mit den besagten Vorteilen der Erfindung abgedeckt, jedoch ist auf einfache Art und Weise ein Weiterbehandeln der gesammelten Fraktionen durch Geräte der an sich bekannten "liquid handling"-Technik, insbesondere Multipipetten, ohne vorherige Entfernung der Deckfolie 13 möglich. Die Geräteelemente können zur Probenbehandlung durch die Schlitze ebenfalls in die Sammelgefäß 9 eindringen, wobei sich die Schlitzöffnungen nach der Behandlung infolge der flexiblen Deckfolie 13 wieder selbsttätig schließen.

Es ist zweckmäßig, die Deckfolie 13 nur im Bereich der Kontaktflächen zur Multiwellanalysenplatte 10 mit Klebstoffen zu versehen, damit die Perforierspitze 8 nicht mit dem Klebstoff kontaminiert wird und die Adhäsion von Fraktioniergut über den Klebstoff an der Perforierspitze 8 vermieden wird.

Um die Perforierspitze 8 für eine schnelle und dennoch lagepräzise Austauschbarkeit mit geringem Handhabungs- und Justieraufwand an der Hubeinrichtung 12 zu befestigen, ist die Perforierspitze 8 in Fig. 7 mit einem Aufnahmeflansch 24 zur Aufnahme in einer Klemmvorrichtung 25 der Hubeinrichtung 12 versehen. Der Aufnahmeflansch 24 mit der Perforierspitze 8 wird bis zum ringförmigen Anschlag in die Klemmeinrichtung 25 eingeführt und durch Drehen einer Klemmschraube 26 arretiert. Auf diese Weise können die Perforierspitze 8 je nach Anwendungsbedingung schnell und unkompliziert gewechselt, gleichzeitig aber die für eine exakte vertikale Bewegungssteuerung (auch hinsichtlich des Abstreifens von Restflüssigkeit nach erfolgter Substanzzabgabe) erforderliche Lagepräzision gewährleistet werden. Für eine universelle Anwendbarkeit sollten die Perforierspitze 8, wie auch das Zuführungssystem für die Flüssigkeit, durch Steckverbinder, Schnellkupplungen etc. verbunden sein, um einen schnell einsatzfähigen und vor allem umrüstbaren Aufbau zu realisieren. So sind u. a. Perforierspitzen 8 sowie Zuführungselemente mit unterschiedlicher Durchflußgröße und -menge und je nach Fraktionierungsvoraussetzung insbesondere Schläuche 4, 17 mit variabel verwendbarer Größe und Elastizität in kürzester Zeit einrüstbar.

Da die dünne, hohle Perforierspitze 8 zur Substanzzabgabe mit ihrem Innendurchmesser kleiner oder gleich 0,5 mm und ihrem Außendurchmesser kleiner oder gleich 0,9 mm ein, insbesondere für Biegebeanspruchung, sehr empfindliches Bauelement darstellt, wird ein Sensor (nicht in der Zeichnung dargestellt) an der Perforierspitze 8, welcher deren Biegebelastung, beispielsweise bei einem unvorhergesehenen Hindernis während der Positionierung, erfaßt, eingesetzt. Dieser schaltet im Havariefall die Bewegungssteuerung ab. Ferner sind Feuchtigkeitssensoren (ebenfalls in der Zeichnung nicht dargestellt) zur Erfassung von Leckstellen unter dem Schlauchsystem sowie unter der Multiwellanalysen-

senplatte 10 hilfreich, um die Vorrichtung zur Vermeidung von Schäden durch Flüssigkeitsverlusten schnell abschalten zu können.

In Fig. 8 sind die Verdunstungsverluste einer bekannten handelsüblichen Multiwellanlysenplatte 10, die sowohl an offenen als auch an durch die Deckfolie 13 verschlossenen und im Raster 8 × 12 angeordneten Sammelgefäßen 9 der Multiwellanlysenplatte 10 bei unterschiedlichen Temperaturen gemessen wurden, gegenübergestellt. Die Perforierung der Deckfolie 13 wurde durch senkrechte Einstiche über jedem Sammelgefäß 9 mit einem Einstichloch von ca. 0,5 mm Durchmesser simuliert. Die Sammelgefäße 9 waren jeweils mit 150 µl deionisiertem Wasser gefüllt und wurden entweder bei Raumtemperatur oder auf einer auf 4°C abgekühlten Kupferplatte in einen Laborraum bei Raumtemperaturen von 18–23°C über den Zeitraum von 18,4 Stunden abgestellt. Die Messung der Verdunstung erfolgte durch Gewichtsmessung vor und nach dem Versuch.

Aufstellung der verwendeten Bezugszeichen

- 1 Anschlußadapter
- 2 Mehrwegeventil
- 3 Steuereinheit
- 4 elastischer Schlauch
- 5 Fraktionierventil
- 6 Abfallbehälter
- 7 Ausstoßeinrichtung
- 8 Perforierspitze
- 9 Sammelgefäß
- 10 Multiwellanlysenplatte
- 11 Positioniereinheit
- 12 Hubeinheit
- 13 Deckfolie
- 14 Temperiereinheit
- 15 Stempel
- 16 Widerlager
- 17 Schlauch
- 18 Einzelspitze
- 19 Mehrfachspitze
- 20 Einphasung
- 21 Anphasung
- 22 Phase
- 23 Schneide
- 24 Aufnahmeflansch
- 25 Klemmvorrichtung
- 26 Klemmschraube

Patentansprüche

1. Verfahren zum Sammeln von Fraktionen nach Stofftrennung, bei dem ein substanzabgebendes Element über in einem definierten und zur an sich bekannten "liquid handling"-Technik paßfähigen Raster angeordneten Sammelgefäßen relativ zu diesen positioniert wird, jeweils unter einer vertikalen relativen Bewegung in die Sammelposition gebracht wird und dort eine zu fraktionierende Substanzmenge in das selektierte Sammelgefäß abgibt, dadurch gekennzeichnet, daß das substanzabgebende Element bei seiner vertikalen relativen Bewegung für die Substanzabgabe jeweils eine auf den Sammelgefäßen befindliche und die Aerosolbildung in der Umgebung verhindernde, verdunstungs- und kontaminierungssicher abschließende, Restropfen am substanzabgebenden Element abweisende sowie auch sonstige fehlfraktionierende Substanzanteile fernhaltende Abdeckung perforiert, die Substanz in der Sammelposition durch diese Abdeck-

kung hindurch in das selektierte Sammelgefäß abgibt und sich danach aus dem abgedeckten Sammelgefäß in die Ausgangslage zurück bewegt und daß der Flüssigkeitstrom zum substanzabgebenden Element jeweils während der Positionierbewegung des substanzabgebenden Elementes unterbrochen sowie zur Dämpfung der mit dieser Unterbrechung auf das substanzabgebende Element wirkenden Druckänderungen elastisch aufgenommen und zwischengespeichert wird.

2. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß das substanzabgebende Element zur weiteren Vermeidung einer Fehlfaktionierung bzw. einer Substanzverschleppung so weit in das ausgewählte Sammelgefäß hinein bewegt wird, daß Restropfen am substanzabgebenden Element nach Unterbrechung des Flüssigkeitstromes durch Berührung mit der gesammelten und/oder vorgelegten Substanz bzw. durch Beührung mit der Innenwand des Sammelgefäßes abgestreift werden.

3. Verfahren nach Ansprüchen 1 und 2, dadurch gekennzeichnet, daß die Positionierbewegung des substanzabgebenden Elementes in hochauflösten Schritten gesteuert wird.

4. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß zur weiteren Vermeidung einer Fehlfaktionierung bzw. einer Substanzverschleppung eine nach erfolgter Substanzabgabe in ein selektiertes Sammelgefäß noch in Tropfenform am substanzabgebenden Element befindliche Restflüssigkeit durch einen mechanisch auf dieses oder dessen Zuleitung wirkenden Impuls abgestoßen wird.

5. Verfahren nach Anspruch 4, dadurch gekennzeichnet, daß der Impuls auf ein elastisches Element der Substanzzuführung, beispielsweise einen Zuführungsschlauch, gegeben wird.

6. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß die Sammelgefäße zur weiteren Verringerung der Verdunstungsgefahr und schonenderen Handhabung der Fraktionen temperiert werden.

7. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß die auf den Sammelgefäßen befindliche Abdeckung außer der mit dem substanzabgebenden Element für das Sammeln der Fraktionen erfolgenden Perforierung zusätzlich geschlitzt wird, um die gesammelten Fraktionen mit Geräten der an sich bekannten "liquid handling"-Technik ohne Entfernung der Abdeckung weiterzubehandeln.

8. Vorrichtung zum Sammeln von Fraktionen nach Stofftrennung mit Mitteln, insbesondere einen Anschlußadapter und Zuführungsschlauch, zur Bereitstellung und Zuführung der zu fraktionierenden Substanz, mit einer beispielsweise als gesteuertes Ventil ausgebildeten Fraktioniereinheit für die Substanz, mit einem substanzabgebenden Element zur Abgabe der zu fraktionierenden Substanz in Sammelgefäße, die in einem definierten und zur an sich bekannten "liquid handling"-Technik paßfähigen Raster angeordnet sind, und mit Mitteln zur Positionierbewegung des substanzabgebenden Elementes relativ zu den Sammelgefäßen, einschließlich einer Hubeinheit für dessen Absenken zu dem jeweils selektierten Sammelgefäß, dadurch gekennzeichnet, daß als substanzabgebendes Element eine hohle Perforierspitze (8) vorgesehen ist, die sowohl zum Durchstoßen einer auf den Sammelgefäßen (9) befindlichen und die Aerosolbildung in der Umgebung verhindern, verdunstungs- und kontaminierungssicher sowie auch sonstige fehlfraktionierende Substanzanteile fernhaltenden Abdeckung (13) als

5 auch für eine durch diese Abdeckung (13) hindurch erfolgende Substanzzabgabe in das jeweils selektierte Sammelgefäß (9) dient, daß Mittel (5) zur Unterbrechung der Substanzzuführung zur Perforerspitze (8) während deren Positionierbewegung vorgesehen sind und daß mindestens ein elastischer Verformungskörper (4) für eine elastische Aufnahme und Zwischenspeicherung der durch die Unterbrechung der Substanzzuführung angestauten Substanz vorhanden ist.

10 9. Vorrichtung nach Anspruch 8, dadurch gekennzeichnet, daß die Mittel zur Unterbrechung der Substanzzuführung zur Perforerspitze (8) auch dafür vorgesehen sind, um nach erfolgter Substanzzabgabe noch an der Perforerspitze (8) befindliche Resttropfen durch einen mechanisch auf die Flüssigkeit vor bzw. in der Perforerspitze (8) wirkenden Impuls abzustoßen.

15 10. Vorrichtung nach Anspruch 8, dadurch gekennzeichnet, daß als Mittel zur Unterbrechung der Substanzzuführung zur Perforerspitze (8) während deren Positionierbewegung ein elektromagnetisch gesteuertes Ventil (5) vorgesehen sind.

20 11. Vorrichtung nach Anspruch 8, dadurch gekennzeichnet, daß als elastischer Verformungskörper ein flexibler Zuführungsschlauch (4) mit geringem Innendurchmesser, vorzugsweise kleiner als 0,5 mm, vorgesehen ist.

25 12. Vorrichtung nach Anspruch 8, dadurch gekennzeichnet, daß als Sammelgefäß eine an sich bekannte Multiwellanalyseplatte (10) vorgesehen ist, deren beispielsweise in einer $n \times 8 \times 12$ -Raster angeordneten Sammelgefäße (9) durch eine Folie (13) verschlossen sind.

30 13. Vorrichtung nach Anspruch 8, dadurch gekennzeichnet, daß die Sammelgefäße (9) durch eine Folie (13) verschlossen sind, die ausschließlich an den Auflageflächen Klebstoff zur deren Befestigung aufweist.

35 14. Vorrichtung nach Anspruch 8, dadurch gekennzeichnet, daß die Sammelgefäße (9) zur Temperierung der darin enthaltenden Fraktionen mit einer Temperiereinheit (14), beispielsweise einer temperaturregulierbaren Metallplatte mit Peltierelementen oder einer wassergekühlten Grundplatte, in Verbindung stehen.

40 15. Vorrichtung nach Anspruch 8, dadurch gekennzeichnet, daß die Hubeinheit (12) zur Feinpositionierung der Perforerspitze (8) mit einem hochauflösten Schrittantrieb in Verbindung steht.

45 16. Vorrichtung nach Anspruch 8, dadurch gekennzeichnet, daß die Perforerspitze (8) zum Zweck einer austauschbaren, schnellen und lagepräzisen Befestigung an der Hubeinheit (12) eine für eine Klemmungsvorrichtung (25, 26) vorgesehenen lagedefinierte Aufnahme, beispielsweise einen zylinderförmigen Flansch (24) mit einem ringförmigen Anschlag, aufweist.

50 17. Vorrichtung nach Anspruch 8, dadurch gekennzeichnet, daß an der Perforerspitze (8) zu deren Schutz gegen mechanische Beanspruchung bei einem unvorhergesehenen Bewegungshindernis mindestens ein Sensor, beispielsweise für die Erfassung der Biegebelastung der Perforerspitze (8), angeordnet ist, der mit den Mitteln zur Positionierbewegung der Perforerspitze (8) und zur Substanzzuführung in Verbindung steht und die Positionierbewegung und Substanzzuführung im Havariefall unterbricht.

55 60 65 18. Vorrichtung nach Anspruch 8, dadurch gekennzeichnet, daß unterhalb der Sammelgefäße (9) und/ oder der flüssigkeitsführenden Elementen, insbesondere unter den Schläuchen (4, 17), Sensoren zur Erfassung von Leckstellen angeordnet sind und daß die Sensoren

mit einer Abschalteinheit der Anlage gekoppelt sind. 19. Vorrichtung nach Anspruch 8, dadurch gekennzeichnet, daß die Perforerspitze (8) aus einem Material hoher mechanischer Festigkeit und hoher chemischer Beständigkeit, beispielsweise aus einem inerten Edelstahl, besteht und daß deren Innendurchmesser kleiner oder gleich 0,5 mm und deren Außendurchmesser kleiner oder gleich 0,9 mm sind.

20. Vorrichtung nach Anspruch 8, dadurch gekennzeichnet, daß die Perforerspitze (8) eine Einzelspitze (18) aufweist.

21. Vorrichtung nach Anspruch 8, dadurch gekennzeichnet, daß die Perforerspitze (8) eine Mehrfachspitze (19) aufweist.

22. Vorrichtung nach Anspruch 8, dadurch gekennzeichnet, daß die Perforerspitze (8) Ein- bzw. Anphasungen (20, 21) aufweist.

23. Vorrichtung nach Anspruch 8, dadurch gekennzeichnet, daß die Perforerspitze (8) eine beliebig gekrümmte Phase (22) aufweist.

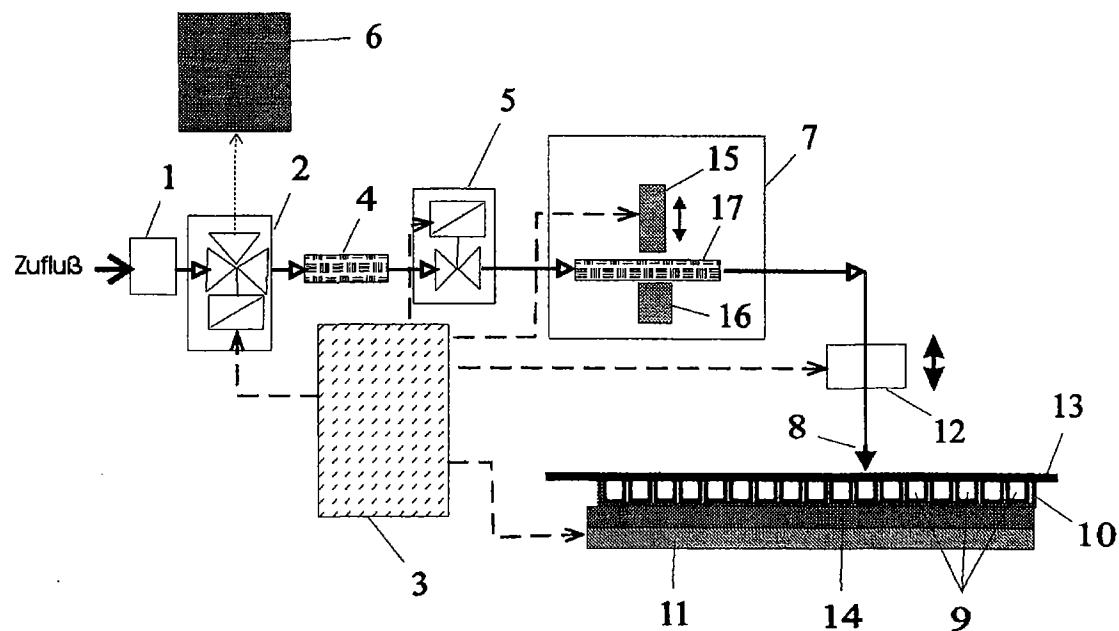
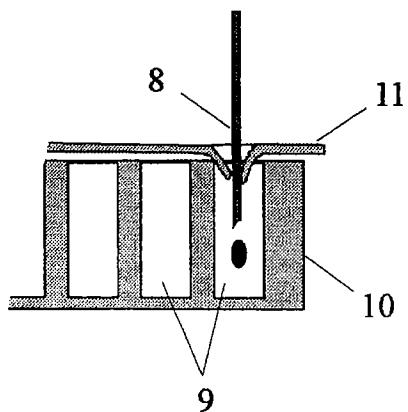
24. Vorrichtung nach Anspruch 8, dadurch gekennzeichnet, daß die Perforerspitze (8) eine oder mehrere Spitzen (18, 19) und/oder und mindestens eine Phase (20, 21, 22) aufweist.

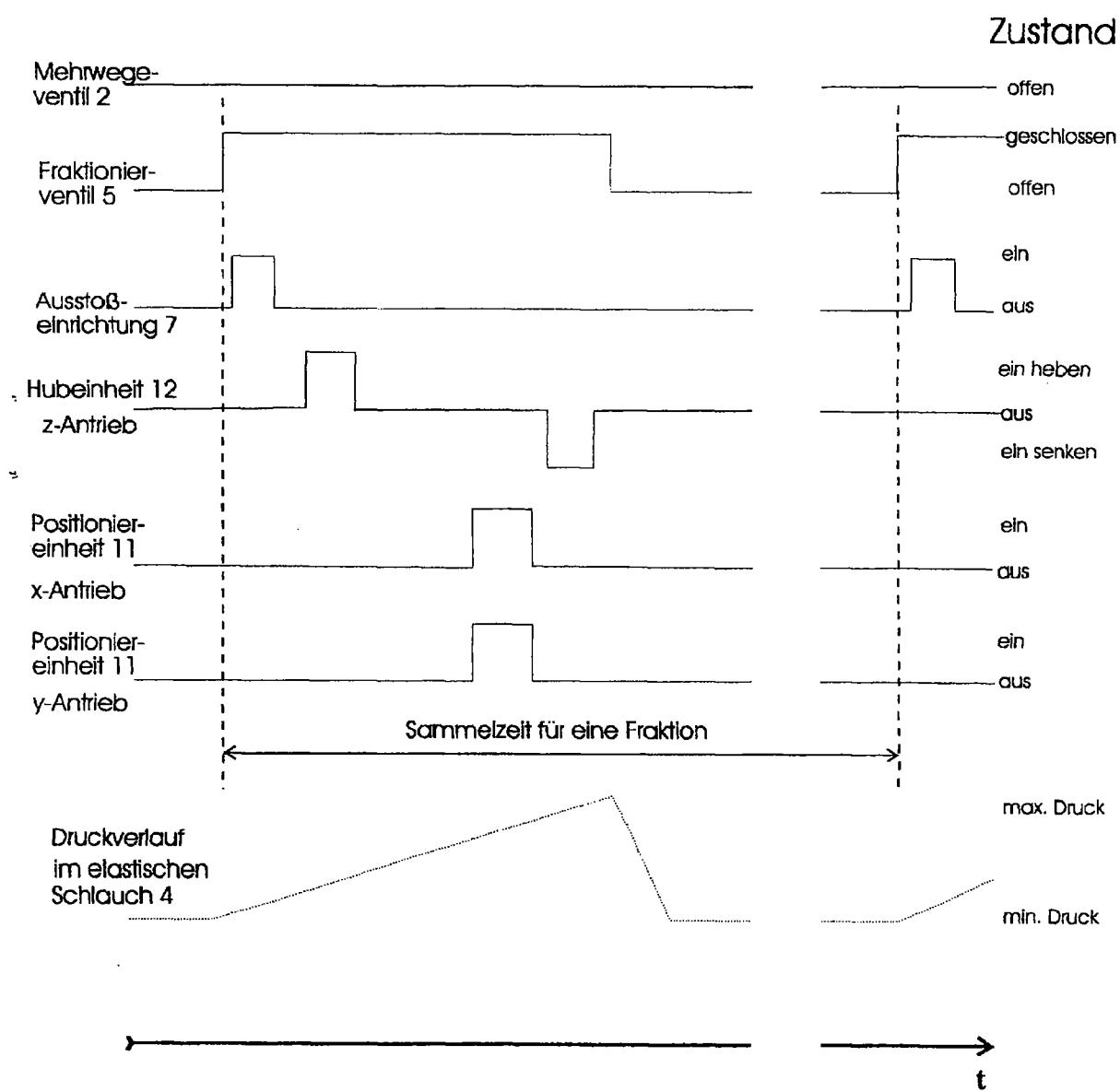
25. Vorrichtung nach Anspruch 8, dadurch gekennzeichnet, daß zumindest der Verformungskörper (4) und die Perforerspitze (8) für eine austauschbare Verwendung Mittel zum schnellen Verbinden, beispielsweise einen Steckverbinder oder eine Schnellkuppelung, aufweisen.

26. Vorrichtung nach Anspruch 8, dadurch gekennzeichnet, daß zusätzlich zu der Perforerspitze (8) mindestens eine Schneide (23) vorgesehen ist, welche die Abdeckung (13) schlitzt, um die in den Sammelgefäßen (9) gesammelten Fraktionen mit Geräten der an sich bekannten "liquid handling"-Technik weiterzuarbeiten, ohne hierfür die Abdeckung (13) entfernen zu müssen.

27. Vorrichtung nach Anspruch 26, dadurch gekennzeichnet, daß die mindestens eine Schneide (23) ebenfalls an der Perforerspitze (8) oder an der Hubeinrichtung (12) angeordnet ist und mit deren Positionierung für das Einschlitzen der Abdeckung (13) bewegt wird.

Hierzu 6 Seite(n) Zeichnungen

**Fig. 1****Fig. 2**

**Fig. 3**

Zustand

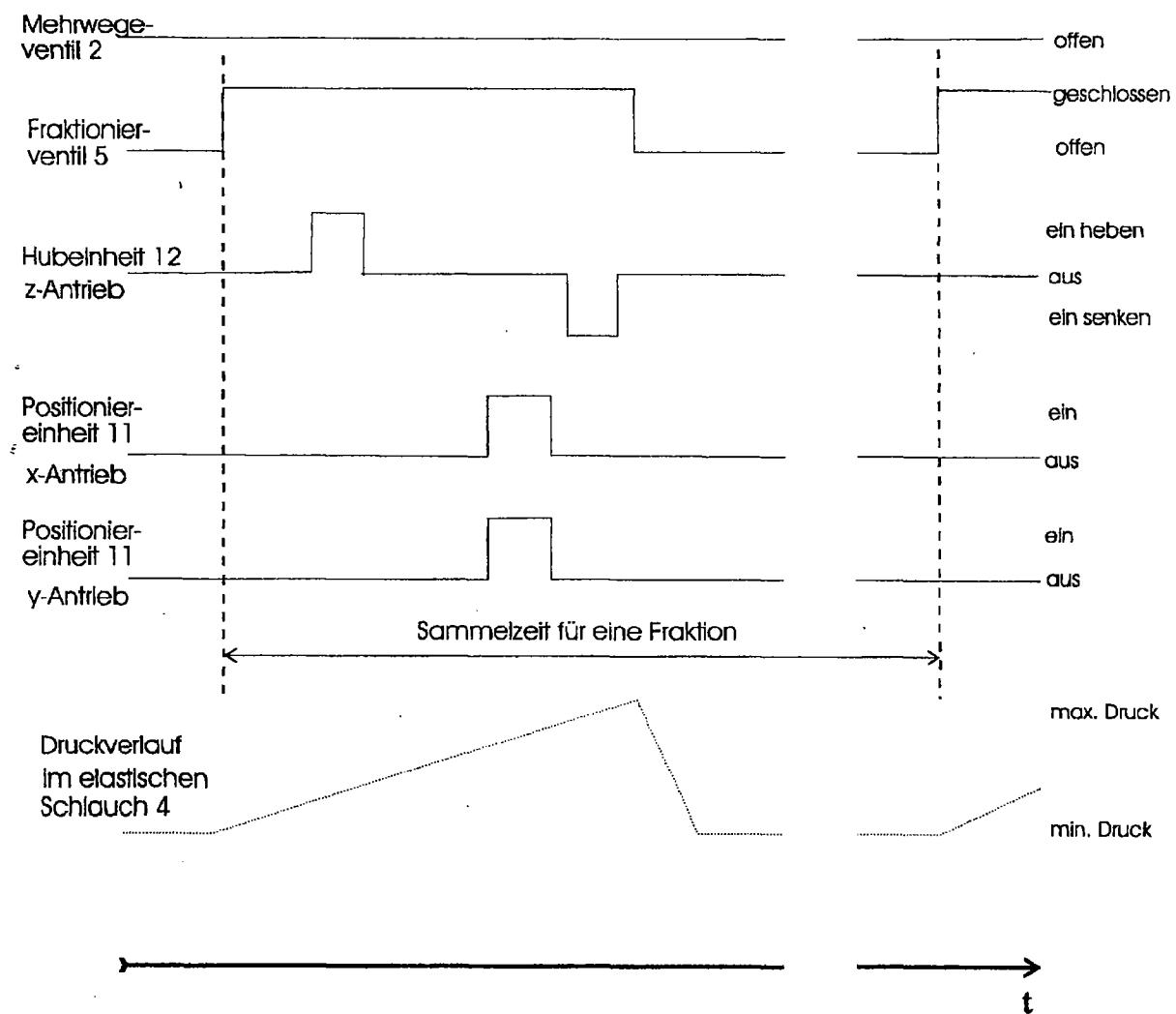


Fig. 4

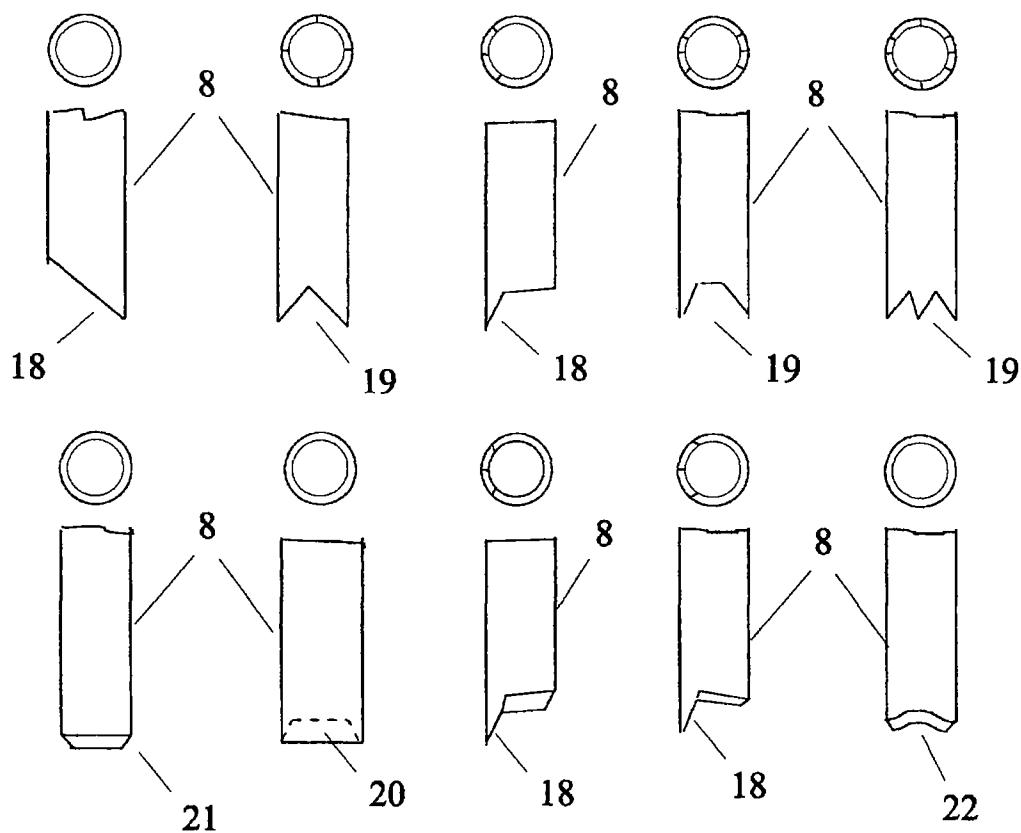
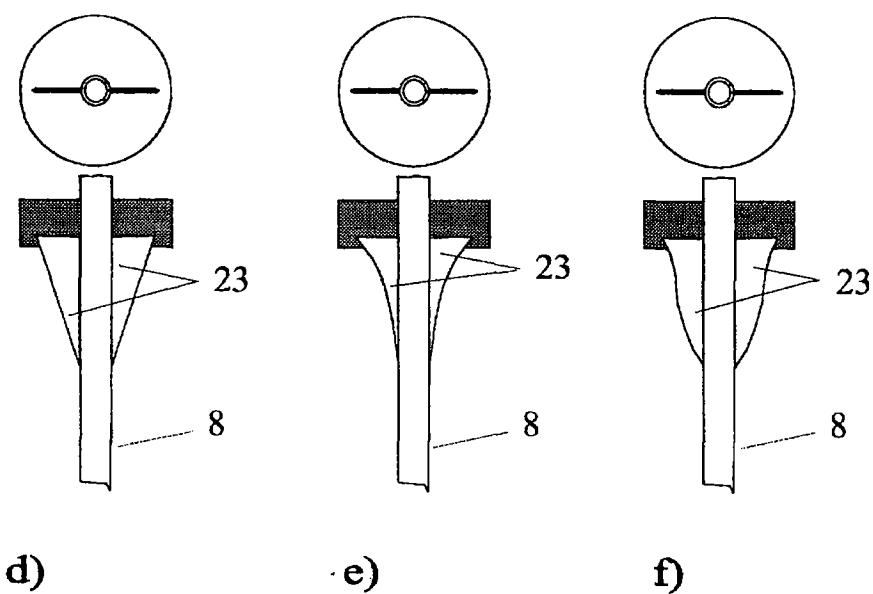
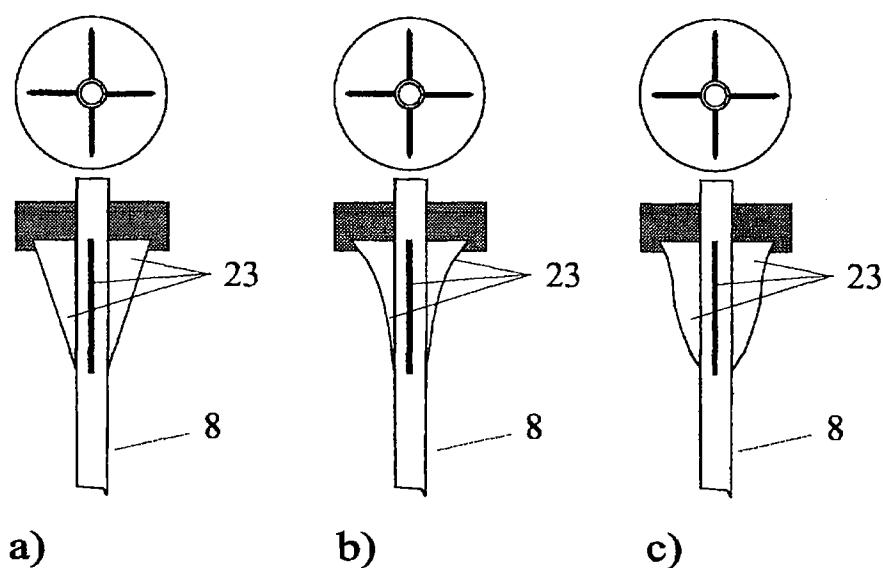


Fig. 5

**Fig. 6**

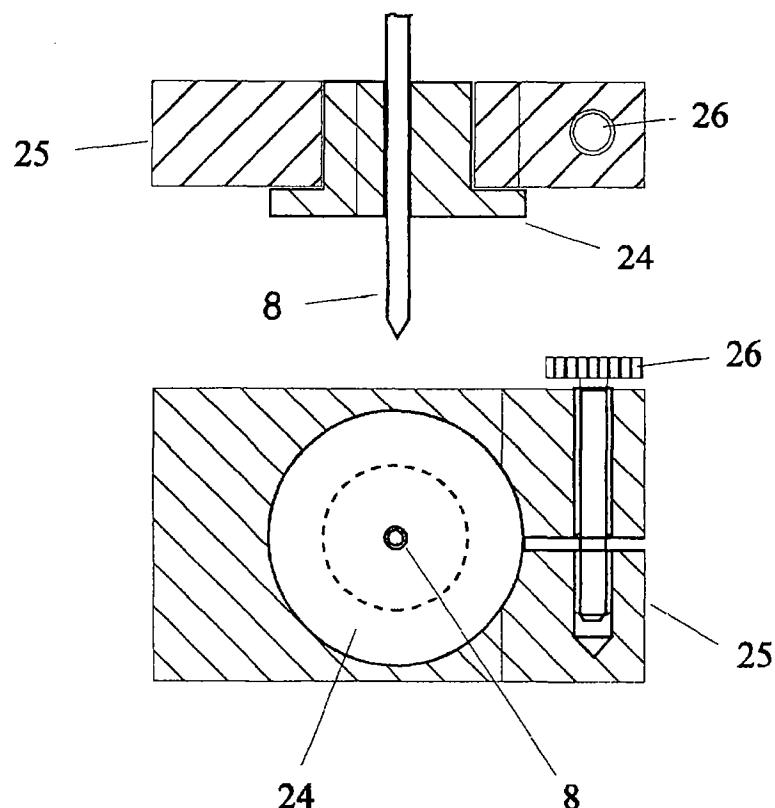


Fig. 7

Bedingungen	Verdunstungsrate [μ l/min]	Massseverlust über 18,4 h [%]
Multiwellanalysenplatte bei Raumtemperatur offen	5,22	60
Multiwellanalysenplatte bei Raumtemperatur mit perforierter Folie	0,37	4,2
Multiwellanalysenplatte bei 4 °C mit perforierter Folie	0,037	0,4

Fig. 8